

## ОБЗОРЫ

## REVIEWS

## Клиническое и прогностическое значение молекулярных маркеров диффузной В-крупноклеточной лимфомы

С.М. Расторгуев<sup>1</sup>, Д.А. Королева<sup>2</sup>, Е.С. Булыгина<sup>1</sup>, С.В. Цыганкова<sup>1</sup>, Н.Г. Гончаров<sup>1</sup>, О.С. Нарайкин<sup>1</sup>, Н.Г. Габеева<sup>2</sup>, Е.Е. Звонков<sup>2</sup>, А.В. Недолужко<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ «НИЦ “Курчатовский институт”», пл. Академика Курчатова, д. 1, Москва, Российская Федерация, 123182

<sup>2</sup> ФГБУ «НИИЦ гематологии» Минздрава России, Новый Зыковский пр-д, д. 4а, Москва, Российская Федерация, 125167

## Clinical and Prognostic Value of Molecular Markers of Diffuse Large B-Cell Lymphoma

SM Rastorguev<sup>1</sup>, DA Koroleva<sup>2</sup>, ES Boulygina<sup>1</sup>, SV Tsygankova<sup>1</sup>, NG Goncharov<sup>1</sup>, OS Naraiкин<sup>1</sup>, NG Gabeeva<sup>2</sup>, EE Zvonkov<sup>2</sup>, AV Nedoluzhko<sup>1</sup>

<sup>1</sup> National Research Center “Kurchatov Institute”, 1 Akademika Kurchatova sq., Moscow, Russian Federation, 123182

<sup>2</sup> National Medical Hematology Research Center, 4a Novyi Zykovskii pr-d, Moscow, Russian Federation, 125167

## РЕФЕРАТ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) — наиболее распространенная лимфатическая опухоль взрослых, она составляет примерно 30–40 % всех неходжкинских лимфом. К критериям диагноза относятся диффузный рост крупных анаплазированных опухолевых клеток, экспрессия В-клеточных маркеров и высокий индекс пролиферативной активности. Благодаря совершенствованию молекулярно-генетических технологий стало очевидно, что в основе клинического разнообразия лежит огромное количество генетических поломок, определяющих эпигенетическую модификацию экспрессии генов, вариабельность активации определенных сигнальных путей и иммунологические особенности опухолевых клеток. Исследование и систематизация молекулярных маркеров являются важным направлением в области диагностики и лечения ДВКЛ. В настоящем обзоре мы описываем данные о наиболее значимых молекулярных маркерах и современные представления об их клиническом значении.

**Ключевые слова:** лимфома, ДВКЛ, В-клетки, транскриптомика, экспрессия генов, эпигеномика, геномика.

**Получено:** 3 июля 2018 г.

**Принято в печать:** 10 декабря 2018 г.

*Для переписки:* Артем Валерьевич Недолужко, канд. биол. наук, пл. Академика Курчатова, д. 1, Москва, Российская Федерация, 123182; тел.: +7(916)670-55-95; e-mail: nedoluzhko@gmail.com

*Для цитирования:* Расторгуев С.М., Королева Д.А., Булыгина Е.С. и др. Клиническое и прогностическое значение молекулярных маркеров диффузной В-крупноклеточной лимфомы. Клиническая онкогематология. 2019;12(1):95–100.

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-95-100

## ABSTRACT

Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) is the most common lymphoid tumor in adults which is associated with approximately 30–40 % of all non-Hodgkin’s lymphomas. Diagnostic criteria include diffuse growth of large anaplastic tumor cells, expression of B-cell markers, and a high proliferative index. Due to the development of molecular genetic technologies it became obvious that underlying cause of clinical diversity is a huge amount of genetic failures which determine epigenetic modification of gene expression, activation variability of certain signaling pathways, and immunological properties of tumor cells. The study and systemization of molecular markers present a significant trend in DLBCL diagnosis and treatment. This review discusses most important molecular markers and current view on their clinical value.

**Keywords:** lymphoma, DLBCL, B-cells, transcriptomics, gene expression, epigenomics, genomics.

**Received:** July 3, 2018

**Accepted:** December 10, 2018

*For correspondence:* Artem Valer’evich Nedoluzhko, PhD in Biology, 1 Akademika Kurchatova sq., Moscow, Russian Federation, 123182; Tel.: +7(916)670-55-95; e-mail: nedoluzhko@gmail.com

*For citation:* Rastorguev SM, Koroleva DA, Boulygina ES, et al. Clinical and Prognostic Value of Molecular Markers of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. Clinical oncohematology. 2019;12(1):95–100.

DOI: 10.21320/2500-2139-2019-12-1-95-100



## ВВЕДЕНИЕ

Диффузная В-крупноклеточная лимфома (ДВКЛ) является самым частым иммуноморфологическим вариантом неходжкинских лимфом и характеризуется агрессивным течением. Заболевание отличается гетерогенностью клинических, иммуноморфологических и молекулярно-генетических характеристик. В последнее время благодаря появлению новых методов диагностики были достигнуты значительные успехи в понимании молекулярных и клеточных механизмов заболевания. Молекулярные основы патогенеза ДВКЛ, как и других типов В-клеточных лимфом, неоднородны. Однако общей чертой является дисрегуляция стандартной для В-клеток программы экспрессии генов, что приводит к нарушению механизмов апоптоза и пролиферации [1–3].

Одним из наиболее распространенных режимов иммунохимиотерапии, используемых для лечения ДВКЛ в мире, является протокол R-СНОР. Однако при применении данной программы только в половине случаев удается достичь стойких ремиссий, а у 40 % пациентов заболевание прогрессирует или развивается рецидив. Известно, что рецидивы после R-СНОР могут быть химиорезистентными, поэтому на первых этапах рационально применение интенсивных программ противоопухолевого лечения, например модифицированной программы mNHL-BFM-90, которая использовалась в отечественных клиниках [4–7].

К настоящему времени не существует единого мнения о патогенезе ДВКЛ. Известно, что данный тип В-клеточной лимфомы может развиваться как *de novo*, так и в результате трансформации из других вариантов лимфоидных опухолей (фолликулярной лимфомы, хронического лимфолейкоза и др.). В качестве возможных факторов риска развития ДВКЛ рассматриваются иммунодефицитные состояния, как врожденные, так и приобретенные (ВИЧ), лекарственная иммуносупрессия при трансплантации органов, инфицированность вирусами Эпштейна—Барр (EBV), гепатита С и герпеса 8-го типа [8, 9].

Клиническая картина ДВКЛ гетерогенна по распространенности и локализации очагов поражения, выраженности симптомов опухолевой интоксикации и ответу на иммунохимиотерапию. Несмотря на то что современная диагностика ДВКЛ основывается на комплексной оценке клинико-лабораторных данных, а также результатов морфологического, иммуногистохимического и генетического исследований, прогноз заболевания зачастую непредсказуем, что требует дальнейшего поиска молекулярных факторов для определения тактики терапии.

К настоящему времени выделено два основных подтипа ДВКЛ: из В-клеток, подобных клеткам герминативного центра (GCB-подтип), характеризующийся более благоприятным прогнозом, и из активированных В-клеток (ABC-подтип). Выделение молекулярных подтипов имеет клиническое значение: в отличие от GCB-подтипа ABC-подтип характеризуется более агрессивным течением и худшим ответом на терапию по программе R-СНОР [1, 10, 11].

Использование современных методов молекулярной генетики, таких как полногеномное и таргетное секвенирование, — важное и перспективное направление в выявлении новых прогностических маркеров для определения молекулярных подтипов ДВКЛ [12–16].

К середине 2018 г. опубликованы сотни работ, посвященных изучению происхождения, течения и патогенеза ДВКЛ. Однако, несмотря на опыт, накопленный за историю геномных, транскриптомных и эпигеномных исследований, точные прогностические маркеры, а также молекулярные механизмы этого заболевания остаются не до конца ясными.

## ЭКСПРЕССИЯ НЕКОДИРУЮЩИХ РНК ПРИ ДВКЛ

Одними из первых, кто попытался выделить GCB- и ABC-подтипы ДВКЛ, используя анализ экспрессии микроРНК, были Чарльз Лоури с коллегами, которые описали три гена микроРНК: *miR-155*, *miR-21* и *miR-221*, статистически значимо интенсивнее экспрессирующиеся при ABC-, чем при GCB-подтипе ДВКЛ [17]. В дальнейших исследованиях, проведенных на большем количестве образцов и включавших в анализ несколько сотен генов микроРНК, были подтверждены экспрессионные профили генов *miR-155*, *miR-21* и продемонстрирована возможность их использования в качестве маркерных. Кроме того, было показано, что более высокая экспрессия *miR-222* при ABC-подтипе ДВКЛ коррелирует с низкими показателями общей выживаемости [18].

Активно изучается патогенетическое и прогностическое значение длинных некодирующих РНК (днРНК) [19]. В частности, показано, что повышенная экспрессия *PEG10*, *LUNAR1*, *HULC*, *HOTAIR*, *MALAT-1* и некоторых других типов молекул днРНК даже по отдельности может служить независимым прогностическим фактором ДВКЛ, поскольку их «выключение» приводит к подавлению пролиферации опухоли и апоптозу ее клеток. Предполагается, что некоторые из этих молекул могут использоваться в качестве независимых индикаторов прогноза агрессивного течения заболевания [20–24]. В то же время повышенная экспрессия отдельных днРНК может служить предиктором благоприятного прогноза при ДВКЛ.

Широкомасштабное исследование экспрессии днРНК позволило выявить 6 генов некодирующих РНК (*SACS-AS1*, *MME-AS1*, *CSMD2-AS1*, *RP11-360F5.1*, *RP11-25K19.1*, *CTC-467M3.1*), высокий уровень экспрессии которых был сопряжен с худшими показателями общей выживаемости. Функциональный анализ этих молекул предполагает их участие в молекулярных механизмах, связанных с развитием ДВКЛ [25].

Сравнительные исследования полных транскриптомов позволяют не только находить существенные отличия между здоровыми клетками и клетками ДВКЛ, но и обнаруживать сотни новых днРНК, экспрессирующихся исключительно в тканях опухоли [19]. Выявление значительного числа днРНК при ДВКЛ свидетельствует о том, что генетический аппарат клеток опухоли в значительной степени на-

рушен относительно здоровых клеток и эти отличия могут дать значимую информацию о патогенезе ДВКЛ [26].

Следует отметить, что к настоящему времени опубликованы результаты десятков исследований, в которых описывается экспрессия различных типов некодирующих РНК у пациентов с ДВКЛ. Многие из этих исследований проведены на клеточных линиях, что приводит к значительным отличиям их результатов от данных, получаемых при анализе опухолевой ткани больных. Тем не менее некодирующие РНК остаются многообещающим инструментом для идентификации молекулярных подтипов ДВКЛ и определения прогноза.

## ЭКСПРЕССИЯ БЕЛОК-КОДИРУЮЩИХ ГЕНОВ ПРИ ДВКЛ

Еще одним направлением в исследованиях подтипов ДВКЛ является изучение профиля экспрессии генов различных молекулярных путей. Такие работы в значительной мере направлены на поиск молекулярных маркеров, которые позволили бы различать между собой подтипы ДВКЛ.

Одна из наиболее ранних работ, которая позволила дифференцировать GCB- и ABC-подтипы ДВКЛ, была опубликована почти 20 лет назад. На основании изучения экспрессионных чипов были проанализированы группы генов, экспрессия которых позволяла выделять два основных подтипа ДВКЛ. Данное исследование послужило основанием для начала работ по созданию молекулярной классификации ДВКЛ на основе экспрессии генов [1].

В дальнейшем было определено несколько генов, которые могут относиться к потенциальным маркерам идентификации подтипов ДВКЛ, в частности дифференциально экспрессирующиеся гены *LMO2*, *BCL2*, *BCL6* и *MUM1* [27]. Более того, детальный анализ данных RNA-seq (секвенирование следующего поколения РНК) нескольких сотен случаев ДВКЛ показал, что *BCL2* более мутирован в GCB-подтипе, хотя эти мутации никак не коррелируют с выживаемостью пациентов [28].

Секвенирование РНК и анализ альтернативного сплайсинга (созревание мРНК) также можно считать высокоэффективными методами молекулярной идентификации подтипов ДВКЛ. В частности, в исследованной выборке (112 образцов) сплайс-варианты позволяли различать подтипы ДВКЛ [29].

Увеличение уровня экспрессии генов *POU2AF1*, *SLC1A4*, *REL11*, *FANCL*, *CACNA1D*, *TRRAP*, *CUX1* было выявлено у пациентов с рефрактерным течением заболевания. Предполагается, что повышение уровня экспрессии этих генов приводит к резистентности к противоопухолевым химиопрепаратам посредством изменений в работе молекулярных путей, сопряженных с окислительным фосфорилированием и работой АТФ-связывающих белков (ABC-белков) [30].

Показано, что высокая экспрессия транскрипционного фактора *forkhead box P1 (FOXP1)* связана с ABC-подтипом ДВКЛ. Предполагается, что *FOXP1* как центральный регулятор транскрипции при ABC-

подтипе негативно влияет на прогноз путем прямой или непрямой регуляции целого ряда генов молекулярных путей в клетках опухоли [31].

## МУТАЦИИ И ГЕНЫ ПРИ ДВКЛ

Самое крупное за последнее время исследование, которое объединило сотни образцов ДВКЛ, было опубликовано относительно недавно. В работе А. Reddy и соавт. было проанализировано 502 пары (опухоль-норма) образцов экзомного секвенирования от пациентов с ДВКЛ [32]. В результате комплексного экзомного и транскриптомного исследования опухолевых тканей авторы выявили 150 генов, принимающих непосредственное участие в патогенезе ДВКЛ. Эти гены можно отнести к четырем основным категориям:

- 1) гены сигнальных путей (например, *MTOR*, *PIK3R1*, *PIM2*, *ВТК*);
- 2) гены, связанные с транскрипцией и трансляцией в клетке (например, *SF3B1*, *XPO1*, *HIST1H1E*);
- 3) гены, отвечающие за стадии дифференцировки В-клеток (например, *EBF1*, *IRF4*, *PAX5*, *POU2F2*, *YY1*);
- 4) гены, отвечающие за клеточный рост и пролиферацию (например, *MYC*, *CHD8*, *BCL2*).

Подавляющее большинство этих генов подвержено мутациям как при GCB-, так и при ABC-подтипе. Однако 20 генов являются дифференциальными для разных подтипов ДВКЛ. Например, мутации генов *EZH2*, *SGK1*, *GNA13*, *SOCS1*, *STAT6*, *TNFRSF14* более часто наблюдаются при GCB-подтипе, тогда как мутации генов *ETV6*, *MYD88*, *PIM1*, *TBL1XR1* — при ABC-подтипе. Следует отметить, что мутации в генах, ответственных за возникновение ДВКЛ, происходят не случайным образом, а сложно структурированы, как с положительными корреляциями друг с другом, так и наоборот — мутации в одном гене никогда не сочетаются с мутациями в другом. Например, мутации в гене *MLL2* не встречаются в одном и том же образце с мутациями в гене *MYC*, несмотря на то что раздельно эти гены при ДВКЛ подвергаются мутациям довольно часто, или ген *TP53* не подвергается мутациям одновременно с геном *KLHL6* [33, 34].

Учитывая большое разнообразие генов, участвующих в патогенезе опухоли, выбор терапии, основанный только на отдельных генетических поломках, не представляется оптимальным. Наиболее перспективной является комплексная оценка функциональных и структурных нарушений, обуславливающих гетерогенность ДВКЛ. Так, анализ выявленных генетических нарушений в зависимости от профиля экспрессии генов позволил выделить четыре генетических подтипа, основанных на структурных изменениях генов: *MCD (MYD88/CD79B/IRF4)*, *N1 (NOTCH1)*, *BN2 (BCL6/NOTCH2)*, *EZB (EZH2/BCL2)*. При сопоставлении с клиническими данными оказалось, что 5-летняя общая выживаемость статистически значимо различалась в подгруппах и составила 26, 36, 65 и 68 % соответственно. Более того, впервые выделены генетические подтипы в пределах ABC-подтипа ДВКЛ,

в которых также были получены различия в общей и безрецидивной выживаемости [35]. Таким образом, выявленные подтипы могут стать основанием для разработки дифференцированных программ терапии ДВКЛ.

Еще одной особенностью ДВКЛ, которая является следствием высокой гетерогенности данного заболевания, можно считать зависимость получаемых данных от конкретной изучаемой выборки. Так, если сравнить гены, подвергшиеся мутациям, из приведенной выше работы [32] с генами, указанными в предыдущих исследованиях, посвященных изучению мутаций при ДВКЛ [36–39], то из 18 генов с наибольшей частотой мутаций совпадает лишь половина, причем гены с наибольшей частотой мутаций из обоих списков в другом списке не присутствуют (см. табл. 1).

Такая гетерогенность данных, полученных из разных источников, может служить свидетельством того, что патологические молекулярные механизмы опухолевой трансформации у разных пациентов с ДВКЛ не всегда сходны. В связи с этим для подобного рода исследований крайне важно, чтобы выборка пациентов была репрезентативной.

В табл. 1 представлены два списка генов с наибольшей частотой мутаций в клетках ДВКЛ. Первый столбец сформирован согласно данным из статьи A. Reddy и соавт. [32], в которой было проанализировано 502 пары образцов экзомного секвенирования. Второй столбец соответствует объединенным данным из ранее опубликованных статей S. Dubois и соавт. [36], J.G. Lohr и соавт. [37], R.D. Morin и соавт. [38], L. Pasqualucci и соавт. [39], в которых было проанализировано всего 316 пар образцов. В каждом столбце гены расположены по убыванию частоты мутаций в клетках ДВКЛ. Названия генов, совпадающих в обоих списках, выделены красным цветом.

## ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ РНК И ДНК ПРИ ДВКЛ

Свободно циркулирующие молекулы РНК и ДНК в плазме сравнительно недавно стали использоваться при идентификации подтипов ДВКЛ и мониторинге течения болезни. Считается, что они уже сейчас имеют значительный потенциал, который позволит изменить диагностику и терапию [40, 41]. Было показано, что анализ внеклеточной ДНК в плазме позволяет идентифицировать пациентов с риском рецидивов еще до клинических проявлений заболевания, благодаря чему можно интенсифицировать лечение на более ранних этапах [40].

Анализ микроРНК в плазме пациентов с ДВКЛ показал увеличение *miR-124*, *miR-532-5p* и уменьшение *miR-425*, *miR-141*, *miR-145*, *miR-197*, *miR-345*, *miR-424*, *miR-128*, *miR-122*. Эти молекулы задействованы в увеличении экспрессии генов сигнальных путей *STAT3*, *IL8*, *p13k/AKT*, *TGF- $\beta$* , а также в ослаблении функционирования генных каскадов *P TEN* и *p53* [42]. В параллельном исследовании с увеличенной выборкой было описано несколько десятков микроРНК, экспрессия которых отличается в опухоли и нормальных тканях. Часть из них участвует в генных каскадах, связанных с развитием опухолей [43].

Таблица 1. Список генов, подвергающихся мутациям при ДВКЛ

Список генов по A. Reddy et al. [32]	Объединенный список генов по S. Dubois et al. [36], J.G. Lohr et al. [37], R.D. Morin et al. [38], L. Pasqualucci et al. [39]
<i>MLL2</i>	<i>KMT2D</i>
<i>BCL2</i>	<i>CREBBP</i>
<i>MYD88</i>	<i>PIM1</i>
<i>HIST1H1E</i>	<i>TP53</i>
<i>PIM1</i>	<i>B2M</i>
<i>CREBBP</i>	<i>TNFAIP3</i>
<i>CARD11</i>	<i>GNA13</i>
<i>SPEN</i>	<i>MYD88</i>
<i>TP53</i>	<i>MEF2B</i>
<i>ARID1A</i>	<i>TNFRSF14</i>
<i>TNFRSF14</i>	<i>SOCS1</i>
<i>SOCS1</i>	<i>CD79B</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>CARD11</i>
<i>NOTCH2</i>	<i>BCL2</i>
<i>ARID1B</i>	<i>EP300</i>
<i>GNA13</i>	<i>PRDM1</i>
<i>SETD1B</i>	<i>EZH2</i>
<i>SMARCA4</i>	<i>CD58</i>

Значительные перспективы показаны при мониторинге присутствия генов иммуноглобулинов во фракции внеклеточной ДНК. Предполагается, что их представленность в плазме может стать одним из возможных маркеров, отражающих течение ДВКЛ [44]. Генотипирование всей фракции внеклеточной ДНК (Cancer personalized profiling by deep sequencing CAPP-Seq) у пациентов дает возможность классифицировать некоторые подтипы ДВКЛ, определять клетку-предшественницу непосредственно при анализе плазмы. Данный подход значительно превосходит секвенирование генов иммуноглобулинов, позволяя обнаруживать минимальную остаточную болезнь и проводить неинвазивную идентификацию мутаций, связанных с таргетными препаратами [16].

Использование свободно циркулирующих нуклеиновых кислот в качестве прогностического маркера, а также для идентификации и мониторинга ДВКЛ, по видимому, будет иметь значительный успех в самое ближайшее время, поскольку внеклеточная ДНК уже применяется при раннем выявлении рака легких, молочной железы, кишечника, поджелудочной железы, яичников, пищевода, печени и желудка [45].

## ЭПИГЕНЕТИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ДВКЛ

Многочисленные исследования эпигенетических маркеров при В-клеточных лимфомах наглядно демонстрируют наличие мутаций в генах, задействованных в механизмах метилирования, а также значительные изменения в их метилировании, которые могут быть использованы для идентификации подтипов ДВКЛ [46, 47]. Данные изменения могут как носить вероятностный характер, так и приводить к значительным нарушениям в работе генетического аппарата клетки. Например, метилирование первого интрона онкогена *BCL6* поддерживает его высокую экспрессию путем

блокирования связывания с его негативным регулятором *CTCF* [48].

К настоящему времени aberrантное метилирование промоторов обнаружено во фракции свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) в плазме у пациентов с ДВКЛ. Этот маркер, который начал использоваться недавно, уже показал свою перспективность в качестве легкодоступного для оценки ответа на лечение и определения прогноза при ДВКЛ. Анализ метилирования промоторных регионов нескольких генов наглядно продемонстрировал, что aberrантное метилирование *DAPK1* в плазме может быть независимым прогностическим маркером, который также может использоваться для оценки ответа на лечение [49]. Более того, гиперметилирование и в биопсийном материале, и в сцДНК служит маркером неблагоприятного прогноза при ДВКЛ. В то же время ряд гиперметилированных промоторов (например, промотор гена *P15*), наоборот, могут быть показателями высокой вероятности достижения полной ремиссии [50, 51].

Предполагается, что профили метилирования ДНК позволят классифицировать ДВКЛ на различные биологически и клинически значимые подтипы. Так, к настоящему времени удалось выявить как минимум 6 отличающихся по уровню метилирования молекулярных подтипов ДВКЛ. Показано, что степень метилирования может быть связана с вероятностью достижения ремиссии после R-СНОР [52].

В то же время эпигенетические изменения в процессе лимфогенеза и при рецидивах по-прежнему остаются недостаточно изученными, хотя они могли бы стать одним из решений при лечении рефрактерной ДВКЛ. Например, азацитидин прекращает метилирование промоторов генов-онкосупрессоров и в некоторых случаях позволяет увеличить эффективность терапии [53].

Предполагается, что изучение эпигенетических изменений в опухолевых клетках и внеклеточной ДНК в плазме позволит не только предсказывать возможные рецидивы ДВКЛ, но и идентифицировать фенотип опухоли [54].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фундаментальное и прикладное значение исследований молекулярных механизмов развития и течения ДВКЛ сложно переоценить, поскольку ДВКЛ является наиболее распространенным вариантом злокачественных лимфопрлиферативных заболеваний взрослых. Геномные, транскриптомные и эпигеномные исследования позволяют выявлять ранее не описанные молекулярные пути, показывающие, какие именно регуляторные модули изменены, и могут служить биомаркерами разных типов ДВКЛ. К настоящему времени описаны десятки подобных молекулярных маркеров, имеющих важную прогностическую ценность в различных этнических группах населения. Генетические маркеры, выявленные в одной этнической популяции, могут существенно отличаться от другой [55, 56].

Многие описанные в данном обзоре работы опираются лишь на отдельные типы генетических

маркеров. Комплексные исследования, которые охватывали бы значительные выборки образцов ДВКЛ и использовали бы различные методы и гены, немногочисленны. Мы предполагаем, что сравнительный анализ молекулярных путей в здоровых и опухолевых клетках позволит приблизиться к пониманию патогенетических механизмов развития опухоли, а также выявить прогностические маркеры при ДВКЛ для российской популяции больных.

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при финансовой поддержке ФГБУ «НИЦ «Курчатовский институт»».

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** Е.Е. Звонков, О.С. Нарайкин, Н.Г. Гончаров, А.В. Недолужко.

**Сбор и обработка данных:** С.М. Расторгуев, А.В. Недолужко, Д.А. Королева, Е.С. Булыгина, С.В. Цыганкова, Н.Г. Габеева.

**Предоставление материалов исследования:** Д.А. Королева, Н.Г. Габеева.

**Анализ и интерпретация данных:** Е.С. Булыгина, С.В. Цыганкова, С.М. Расторгуев.

**Подготовка рукописи:** С.М. Расторгуев, Н.Г. Габеева, А.В. Недолужко.

**Окончательное одобрение рукописи:** все авторы.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, et al. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature*. 2000;403(6769):503–11. doi: 10.1038/35000501.
2. Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med*. 2001;194(11):1639–48. doi: 10.1084/jem.194.11.1639.
3. Staudt LM, Dave S. The biology of human lymphoid malignancies revealed by gene expression profiling. *Adv Immunol*. 2005;87:163–208. doi: 10.1016/S0065-2776(05)87005-1.
4. Звонков Е.Е., Морозова А.К., Кравченко С.К. и др. Восьмилетний опыт применения модифицированной программы NHL-BFM-90 в лечении взрослых больных первичной диффузной В-крупноклеточной лимфомой желудка. *Гематология и трансфузиология*. 2012;57(3):47–8. [Zvonkov EE, Morozova AK, Kravchenko SK, et al. Eight-year experience of using the modified NHL-BFM-90 program for treatment of adult patients with primary diffuse large B-cell gastric lymphoma. *Gematologiya i transfuziologiya*. 2012;57(3):47–8. (In Russ)]
5. Магомедова А.У., Кравченко С.К., Кременецкая А.М. и др. Девятилетний опыт лечения больных диффузной В-крупноклеточной лимфосаркомой. *Терапевтический архив*. 2011;83(7):5–10. [Magomedova AU, Kravchenko SK, Kremenetskaya AM, et al. Nine-year experience in the treatment of patients with diffuse large B-cell lymphosarcoma. *Terapevticheskii arkhiv*. 2011;83(7):5–10. (In Russ)]
6. Гаврилина О.А., Габеева Н.Г., Морозова А.К. и др. Роль высокодозной химиотерапии и трансплантации аутологичных стволовых клеток крови у пациентов с диффузной В-крупноклеточной лимфомой. *Терапевтический архив*. 2013;85(7):90–7. [Gavrilina OA, Gabeeva NG, Morozova AK, et al. Role of high-dose chemotherapy and autologous blood stem cell transplantation in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Terapevticheskii arkhiv*. 2013;85(7):90–7. (In Russ)]

7. Габеева Н.Г., Королева Д.А., Беляева А.В. и др. Диффузная В-крупноклеточная лимфома с сочетанной реаранжировкой генов с-MYC и BCL6 с первичным поражением кожи: собственное наблюдение и обзор литературы. *Терапевтический архив*. 2017;89(7):85–92.
- [Gabeeva NG, Koroleva DA, Belyaeva AV, et al. Diffuse large B-cell lymphoma with concomitant c-MYC and BCL6 gene rearrangements with primary skin involvement: A case report and a review of literature. *Terapevticheskii arkhiv*. 2017;89(7):85–92. (In Russ)]
8. Martelli M, Ferreri AJ, Agostinelli C, et al. Diffuse large B-cell lymphoma. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2013;87(2):146–71. doi: 10.1016/j.critrevonc.2012.12.009.
9. Cohen M, Vistarop AG, Huaman F, et al. Epstein-Barr virus lytic cycle involvement in diffuse large B cell lymphoma. *Hematol Oncol*. 2017;36(1):98–103. doi: 10.1002/hon.2465.
10. Lenz G, Wright G, Dave SS, et al. Stromal gene signatures in large-B-cell lymphomas. *N Engl J Med*. 2008;359(22):2313–23. doi: 10.1056/NEJMoa0802885.
11. Wright G, Tan B, Rosenwald A, et al. A gene expression-based method to diagnose clinically distinct subgroups of diffuse large B cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003;100(17): 9991–6. doi: 10.1073/pnas.1732008100.
12. Skryabin KG, Prokhortchouk EB, Mazur AM, et al. Combining Two Technologies for Full Genome Sequencing of Human. *Acta Nat*. 2009;1(3):102–7.
13. Artemov AV, Boulygina ES, Tsygankova SV, et al. Study of Alzheimer Family Case Reveals Hemochromatosis-Associated HFE Mutation. *Hum Gen Var*. 2014;1(1):14004. doi: 10.1038/hgv.2014.4.
14. Scelo G, Riazalhosseini Y, Greger L, et al. Variation in genomic landscape of clear cell renal cell carcinoma across Europe. *Nat Commun*. 2014;5(1):5135. doi: 10.1038/ncomms6135.
15. Shipp MA, Ross KN, Tamayo P, et al. Diffuse large B-cell lymphoma outcome prediction by gene-expression profiling and supervised machine learning. *Nat Med*. 2002;8(1):68–74. doi: 10.1038/nm102-68.
16. Scherer F, Kurtz DM, Newman AM, et al. Distinct biological subtypes and patterns of genome evolution in lymphoma revealed by circulating tumor DNA. *Sci Transl Med*. 2016;8(364):364ra155. doi: 10.1126/scitranslmed.aai8545.
17. Lawrie CH, Soneji S, Marafioti T, et al. MicroRNA expression distinguishes between germinal center B cell-like and activated B cell-like subtypes of diffuse large B cell lymphoma. *Int J Cancer*. 2007;121(5):1156–61. doi: 10.1002/ijc.22800.
18. Malumbres R, Sarosiek KA, Cubedo E, et al. Differentiation stage-specific expression of microRNAs in B lymphocytes and diffuse large B-cell lymphomas. *Blood*. 2009;113(16):3754–64. doi: 10.1182/blood-2008-10-184077.
19. Zhu D, Fang C, Li X, et al. Predictive analysis of long non-coding RNA expression profiles in diffuse large B-cell lymphoma. *Oncotarget*. 2017;8(14):23228–36. doi: 10.18632/oncotarget.15571.
20. Peng W, Fan H, Wu G, et al. Upregulation of long noncoding RNA PEG10 associates with poor prognosis in diffuse large B cell lymphoma with facilitating tumorigenicity. *Clin Exp Med*. 2016;16(2):177–82. doi: 10.1007/s10238-015-0350-9.
21. Peng W, Feng J. Long noncoding RNA LUNAR1 associates with cell proliferation and predicts a poor prognosis in diffuse large B-cell lymphoma. *Biomed Pharmacother*. 2016;77:65–71. doi: 10.1016/j.biopha.2015.12.001.
22. Peng W, Wu J, Feng J. Long noncoding RNA HULC predicts poor clinical outcome and represents pro-oncogenic activity in diffuse large B-cell lymphoma. *Biomed Pharmacother*. 2016;79:188–93. doi: 10.1016/j.biopha.2016.02.032.
23. Yan Y, Han J, Li Z, et al. Elevated RNA expression of long non-coding HOTAIR promotes cell proliferation and predicts a poor prognosis in patients with diffuse large B cell lymphoma. *Mol Med Rep*. 2016;13(6):5125–31. doi: 10.3892/mmr.2016.5190.
24. Li L-J, Chai Y, Guo X-J, et al. The effects of the long non-coding RNA MALAT-1 regulated autophagy-related signaling pathway on chemotherapy resistance in diffuse large B-cell lymphoma. *Biomed Pharmacother*. 2017;89:939–48. doi: 10.1016/j.biopha.2017.02.011.
25. Sun J, Cheng L, Shi H, et al. A potential panel of six-long non-coding RNA signature to improve survival prediction of diffuse large-B-cell lymphoma. *Sci Rep*. 2016;6(1):27842. doi: 10.1038/srep27842.
26. Verma A, Jiang Y, Du W, et al. Transcriptome sequencing reveals thousands of novel long non-coding RNAs in B cell lymphoma. *Gen Med*. 2015;7(1):110. doi: 10.1186/s13073-015-0230-7.
27. Gutierrez-Garcia G, Cardesa-Salzmann T, Climent F, et al. Gene-expression profiling and not immunophenotypic algorithms predicts prognosis in patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with immunochemotherapy. *Blood*. 2011;117(18):4836–43. doi: 10.1182/blood-2010-12-322362.
28. Schuetz JM, Johnson NA, Morin RD, et al. BCL2 mutations in diffuse large B-cell lymphoma. *Leukemia*. 2012;26(6):1383–90. doi: 10.1038/leu.2011.378.
29. Greenough A, Moffitt A, Jima D, et al. Strand-Specific Total RNA Sequencing Establishes the Complete Transcriptome and Alternative Splicing Repertoire in Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Blood*. 2014;124(21):864.
30. Park HY, Lee SB, Yoo HY, et al. Whole-Exome and Transcriptome Sequencing of Refractory Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *Oncotarget*. 2016;7(52): 86433–45. doi: 10.18632/oncotarget.13239.
31. Dekker JD, Park D, Shaffer AL, et al. Subtype-Specific Addiction of the Activated B-Cell Subset of Diffuse Large B-Cell Lymphoma to FOXP1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2016;113(5):E577–86. doi: 10.1073/pnas.1524677113.
32. Reddy A, Zhang J, Davis NS, et al. Genetic and Functional Drivers of Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Cell*. 2017;171(2):481–94.e15. doi: 10.1016/j.cell.2017.09.027.
33. Saez AI, Saez AJ, Artiga MJ, et al. Building an outcome predictor model for diffuse large B-cell lymphoma. *Am J Pathol*. 2004;164(2):613–22. doi: 10.1016/S0002-9440(10)63150-1.
34. Campo E. MYC in DLBCL: partners matter. *Blood*. 2015;126(22):2439–40. doi: 10.1182/blood-2015-10-671362.
35. Schmitz R, Wright GW, Huang DW, et al. Genetics and Pathogenesis of Diffuse Large B-Cell Lymphoma. *N Engl J Med*. 2018;378(15):1396–407. doi: 10.1056/NEJMoa1801445.
36. Dubois S, Vially PJ, Mareschal S, et al. Next-generation sequencing in diffuse large B-cell lymphoma highlights molecular divergence and therapeutic opportunities: a LYSA study. *Clin Cancer Res*. 2016;22(12):2919–28. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-2305.
37. Lohr JG, Stojanov P, Lawrence MS, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2012;109(10):3879–84. doi: 10.1073/pnas.1121343109.
38. Morin RD, Mungall K, Pleasance E, et al. Mutational and structural analysis of diffuse large B-cell lymphoma using whole-genome sequencing. *Blood*. 2013;122(7):1256–65. doi: 10.1182/blood-2013-02-483727.
39. Pasqualucci L, Trifonov V, Fabbri G, et al. Analysis of the coding genome of diffuse large B-cell lymphoma. *Nat Genet*. 2011;43(9):830–7. doi: 10.1038/ng.892.
40. Roschewski M, Dunleavy K, Pittaluga S, et al. Circulating tumour DNA and CT monitoring in patients with untreated diffuse large B-cell lymphoma: a correlative biomarker study. *Lancet Oncol*. 2015;16(5):541–9. doi: 10.1016/S1470-2045(15)70106-3.
41. Yeh P, Hunter T, Sinha D, Ftouni S, et al. Circulating tumour DNA reflects treatment response and clonal evolution in chronic lymphocytic leukaemia. *Nat Commun*. 2017;8:14756. doi: 10.1038/ncomms14756.
42. Khare D, Goldschmidt N, Bardugo A, et al. Plasma microRNA profiling: Exploring better biomarkers for lymphoma surveillance. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187722. doi: 10.1371/journal.pone.0187722.
43. Meng Y, Quan L, Liu A. Identification of key microRNAs associated with diffuse large B-cell lymphoma by analyzing serum microRNA expressions. *Gene*. 2018;642:205–11. doi: 10.1016/j.gene.2017.11.022.
44. Kurtz DM, Green MR, Bratman SV, et al. Noninvasive Monitoring of Diffuse Large B-Cell Lymphoma by Immunoglobulin High-Throughput Sequencing. *Blood*. 2015;125(24):3679–87. doi: 10.1182/blood-2015-03-635169.
45. Cohen JD, Li L, Wang Y, et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science*. 2018;359(6378):926–30. doi: 10.1126/science.aar3247.
46. Shakhovich R, Melnick A. Epigenetics and B-Cell Lymphoma. *Curr Opin Hematol*. 2011;18(4):293–9. doi: 10.1097/MOH.0b013e32834788cf.
47. Shakhovich R, Geng H, Johnson NA, et al. DNA methylation signatures define molecular subtypes of diffuse large B-cell lymphoma. *Blood*. 2010;116(20):e81–9. doi: 10.1182/blood-2010-05-285320.
48. Lai AY, Fatemi M, Dhasarathy A, et al. DNA methylation prevents CTCF-mediated silencing of the oncogene BCL6 in B cell lymphomas. *J Exp Med*. 2010;207(9):1939–50. doi: 10.1084/jem.20100204.
49. Kristensen LS, Hansen JW, Kristensen SS, et al. Aberrant Methylation of Cell-Free Circulating DNA in Plasma Predicts Poor Outcome in Diffuse Large B Cell Lymphoma. *Clin Epigen*. 2016;8(1):5. doi: 10.1186/s13148-016-0261-y.
50. Wedge E, Hansen JW, Garde C, et al. Global hypomethylation is an independent prognostic factor in diffuse large B cell lymphoma. *Am J Hematol*. 2017;92(7):689–94. doi: 10.1002/ajh.24751.
51. Krajnovic M, Jovanovic MP, Mihaljevic B, et al. Hypermethylation of p15 Gene in Diffuse – Large B-Cell Lymphoma: Association with Less Aggressiveness of the Disease. *Clin Transl Sci*. 2014;7(5):384–90. doi: 10.1111/cts.12162.
52. Chambwe N, Kormaksson M, Geng H, et al. Variability in DNA methylation defines novel epigenetic subgroups of DLBCL associated with different clinical outcomes. *Blood*. 2014;123(11):1699–708. doi: 10.1182/blood-2013-07-509885.
53. Clozel T, Yang S, Elstrom RL, et al. Mechanism-based epigenetic chemosensitization therapy of diffuse large B-cell lymphoma. *Cancer Discov*. 2013;3(9):1002–19. doi: 10.1158/2159-8290.CD-13-0117.
54. Pan H, Jiang Y, Boi M, et al. Epigenomic evolution in diffuse large B-cell lymphomas. *Nat Commun*. 2015;6(1):6921. doi: 10.1038/ncomms7921.
55. Jing L, Su L, Ring BZ. Ethnic Background and Genetic Variation in the Evaluation of Cancer Risk: A Systematic Review. *PLoS ONE*. 2014;9(6):e97522. doi: 10.1371/journal.pone.0097522.
56. Li Y, Wang Y, Wang Z, et al. Racial Differences in Three Major NHL Subtypes: Descriptive Epidemiology. *Cancer Epidemiol*. 2015;39(1):8–13. doi: 10.1016/j.canep.2014.12.001.